1939

Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktor: Professor Dr. Schrader.

Beitrag zur Technik der Rezeptorstärkenbestimmung

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Ingeborg Stepbach
Zahnärztin aus Magdeburg

Halle/Saale
1939

Verlag Carl Nieft, Bleicherode am Harz

LANE MEDICAL LIBRARY
SAN FRANCISCO

1. Berichterstatter: Dozent Dr. Ponsold.

2. Berichterstatter: Professor Dr. Schrader.

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Juli 1939.

Einleitung.

Die Feststellung der klassischen Blutgruppen A, B, AB, O mit der Unterteilung der Gruppe A in A_1 und A_2 und der Faktoren M und N war für die gerichtliche Medizin von größter Bedeutung bei Vaterschaftsnachweisen, Kindesvertauschung und Mordprozessen geworden. Doch mit diesen drei Systemen von Blutklassen allein sind die Unterscheidungen noch nicht erschöpft, und es läßt sich nicht in allen Fällen ein positiver Beweis der Vaterschaft erbringen. Es besteht nur die Möglichkeit, bestimmte Personen auszuschließen.

Bei den meisten Vaterschaftsprozessen handelt es sich um mehrere in Frage kommende Erzeuger, die durch Verschiedenheit ihrer eigenen Blutgruppen mit der des Kindes ausgeschlossen werden können. Es kann aber auch der Fall eintreten, daß die Blutgruppen der in Anspruch genommenen Väter und des Kindes übereinstimmen und keiner nach den bisherigen Untersuchungen auszuschließen ist. Das erstrebte Ziel ist es nun, eine Differenzierungsmöglichkeit trotz Blutgruppengleichheit zu finden.

Die Erkenntnis der quantitativen Unterschiede in der Agglutination hat man sich für neuere Forschungen zur Individualdiagnose in Vaterschaftsfragen zunutze gemacht. Mehrere Autoren haben in dieser Richtung gearbeitet. Moskow bestimmte den Agglutiningehalt des Serums durch Titrieren und kam zu der Überzeugung, daß der Agglutinintiter großen Unbeständigkeiten unterliegt. Seine Versuche haben eindeutig bewiesen, daß keine Abhängigkeit zwischen elterlichen und kindlichen Agglutinintitern besteht. Damit ist die Frage der Vererbung entschieden. Andere Autoren wie Lattes und Grünwald bestätigen die Abhängigkeit des Agglutinins von äußeren Einflüssen. — Anders dagegen verhält sich das Agglutinogen. Hier war es wieder Moskow, der eine Vererbbarkeit der Agglutinationsempfindlichkeit der Erythrozyten festgestellt zu haben glaubt. Er führte seine Versuche

an Familien mit legitimen Kindern in größeren Abständen wiederholend mittels der Titriermethode aus, indem er zu gleichen Serumverdünnungen von 1:1, 1:2, 1:4 usw. gleiche Mengen Blutkörperchenaufschwemmung hinzusetzte. Es ergab sich eine Übereinstimmung der kindlichen oder elterlichen Agglutinogenstärke. Die Erkenntnisse Moskows waren wohl von Bedeutung, führten aber nicht zu dem gewünschten Erfolg, da die Ergebnisse der angewandten Methode nicht beweisend genug waren. Die Methode ist zu grob, denn die Spannen in der Stufenfolge sind zu weit. Es mußte also eine Methode ausgearbeitet werden, die kleine Agglutinationsunterschiede deutlich erkennen läßt. Aus dieser Überlegung heraus hat Ponsold, einerseits durch Einengung der bisher üblichen Reihenfolge von 2, 4, 8, 16, 32... durch die Reihe von 3, 6, 12, 24, 48..., die Einengung dieser beiden Reihen durch die Reihe von 5, 10, 20, 40, 80 usw. ergänzt, seine Methode zur Bestimmung des Bindungsvermögens der Rezeptoren aus dem Mengenverhältnis von Absorptionsblutkörperchen zu Absorptionsserum ausgearbeitet. Außerdem hat Ponsold versucht, über die Bestimmung der Bindungsfähigkeit eine feinere Differenzierbarkeit zu erreichen. Der Empfindlichkeitsgrad der Blutkörperchen gegenüber einem gegebenen Serum läßt sich bekanntlich nach Thomson auf zweierlei Weise prüfen:

1. Durch die Bestimmung der schwächsten Serumkonzentration, die noch eine Agglutination zeigt.
2. Durch die Bestimmung der geringsten Blutkörperchenmenge, die alles Agglutinin in einem gegebenen Serumvolumen absorbiert.

Unsere Methode ist identisch mit der letzten Möglichkeit. Zu einer konstanten unverdünnten Serummenge werden verschiedene Mengen Blutkörperchen hinzugesetzt und prozentual das Verhältnis von Blutkörperchen zum Serum festgelegt. Unsere Methode gibt uns die Möglichkeit, geringe Unterschiede in der Bindungsfähigkeit zweier Blute zu erkennen.

Fragestellung: Diese im Prinzip vorliegende Methode bedurfte in technischen Einzelheiten noch einer weiteren Ausarbeitung, in der die Aufgabe meiner Arbeit liegt. Insbeondere kommen in Frage:

1. Die Bestimmung der Absorptionsdauer,
2. Untersuchungen über das Optimum der Titerstärke des Testserums,
3. Versuche über die Brauchbarkeitsdauer des Testserums.

Methodik der Rezeptorstärkenbestimmung.

Die von Ponsold ausgearbeitete Methode zur Rezeptorstärkenbestimmung wird in dünnen Kapillaren vorgenommen, worin sich die sehr kleinen Mengen am besten messen lassen. Zu unseren Versuchen werden zu einer immer gleichbleibenden Testserummenge variierte Blutkörperchenmengen zugesetzt.

Als Testserum wird ein von ein und derselben Person stammendes Serum mit einer Titerstärke von 1:64 verwandt. Die Blutkörperchen werden in Form des Sedimentes (Zentrifugat) hinzugesetzt. Dieses wurde durch 20 Minuten langes Zentrifugieren gewonnen. Es soll nun dem Serum möglichst die geringste Blutkörperchenmenge zugesetzt werden, die dem Serum alle Agglutinine entzieht. Zu diesem Zweck legen wir, da diese Menge von vornherein nicht genau feststeht, eine Reihe von Proben an, die verschiedene Mengen von Blutkörperchen enthalten. Mehrere Proben sind erforderlich, da einmal die Menge der Blutkörperchen nicht ausreichen könnte, ein zweites Mal ausreichen könnte und ein andermal zu viel hinzugesetzt sein könnte.

Hat die Absorption stattgefunden, werden die zur Absorption hinzugesetzten Blutkörperchen wieder abzentrifugiert und dem Serum als Testmaterial wiederum Blutkörperchen von derselben Person zugesetzt. Wenn diese wiederum agglutiniert werden, so haben bei dieser Probe die vorher zugesetzten Blutkörperchen nicht ausgereicht, um alle Agglutinine zu bilden. Tritt keine Verklumpung ein, so war die Blutkörperchenmenge zu groß oder gerade ausreichend.

Vorprobe.

Bevor mit den Versuchen begonnen wird, kann man den annähernden Rezeptorstärkenwert durch eine Vorprobe ermitteln. In einer dünnen Kapillare werden wie üblich 40 mm Testserum vorgelegt und mit einer zunächst nur 4 mm langen Blutkörperchensäule gemischt. Wenn eine deutliche Agglutination auftritt, werden solange neue Blutkörperchen hinzugesetzt und immer gemischt, bis sich neben den Agglutinaten freie Blutkörperchen

in der Flüssigkeit vorfinden, die zwar nicht mit bloßem Auge sichtbar sind, sondern nur an der gleichmäßigen Rotfärbung des Serums. Damit ist das Serum als erschöpft anzusehen und in der bisher zugesetzten Blutkörperchenmenge der Anhalt für die Stärke der Bindungsfähigkeit der betreffenden Blutkörperchen zu suchen. Diese Art der Prüfung ist zwar nicht genau, hat aber den Vorteil, daß man sich beim Ansetzen der eigentlichen nun folgenden Versuchsreihe danach richten kann.

Technik.

Das zu untersuchende Blut wird in 10 cm langen, dünnwandigen 1—1,5 mm weiten Kapillarröhrchen durch Kapillarattraktion aufgezogen und an dem beim Aufsaugen des Blutes unberührt gebliebenen Ende über der Sparflamme eines Bunsenbrenners sorgfältig zugeschmolzen. Dabei ist zu beachten, daß die Blutsäule beim Zuschmelzen der Röhre ca. 1 cm vom Ende entfernt bleibt, damit eine Schädigung des Blutes durch die Hitze vermieden wird. Das Blut wird nun 20 Minuten bei einer Tourenzahl von 3000 zentrifugiert, um das Serum von den Blutkörperchen zu trennen.

Während des Zentrifugierens wird das Anlegen der Absorptionsreihe vorbereitet. Aus den am hiesigen Institut vorgenommenen Untersuchungen hat sich ergeben, daß die Rezeptorstärken des Blutes der Blutgruppe A etwa zwischen 8 und 25% liegen, d. h. es sind ungefähr 8—25% (bezogen auf die vorgelegte Serummenge) an Blutkörperchen erforderlich, um das Antiserum zu erschöpfen. Will man nun den Grenzwert genau bestimmen, dann sind mindestens zwei Versuchsreihen anzusetzen. Die erste gilt der ungefähren Rezeptorstärkenbestimmung, indem man die Spannen ziemlich groß nimmt. Man setzt in der Regel 5 Kapillaren an mit 8, 12, 15, 20, 25% Blutkörperchen. Liegt die Rezeptorstärke zwischen 20 und 25%, dann werden in dieser Spanne nochmal Versuche mit 21, 22, 23, 24, 25% angesetzt, um den Wert mehr einzuengen. Die Menge des hinzuzufügenden Testserums ist in jedem Fall dieselbe. Erfahrungsgemäß wird eine Länge von 40 mm vorgelegt, da die Kapillare nicht über die Hälfte gefüllt sein soll, weil sonst keine gute Mischbarkeit von Serum und Blutkörperchen gewährleistet wird.

Das Kapillarröhrchen wird auf einen Maßstab gelegt und mit Tinte derjenige Punkt markiert, bis zu dem das Serum aufgezogen werden soll, nämlich in diesem Fall bei 40 mm. Dann wird der Punkt angezeigt, bei dem sich die Serumsäule bei Zusatz der

Blutkörperchen zu verschieben hat. Wenn z. B. 15% Blutkörperchen zugesetzt werden sollen, wird einmal der Punkt 40 und dann der Punkt 46 an der Kapillare markiert. Nach der Markierung wird zuerst das Testserum aufgezogen. Wie schon vorher gesagt, muß das Antiserum immer von ein und derselben Person stammen, da bei verschiedenen Seren Ungenauigkeiten wegen der verschiedenen Titerstärken eintreten können. Zu unseren Versuchen verwenden wir das B-Serum mit einer Titerstärke von 1:64 von einem Klinikangestellten, der sich uns zur Blutentnahme jederzeit zur Verfügung stellt, Das Testserum wird nun bis zu dem zuerst markierten Punkt aufgezogen, und zwar so, daß das Ende des markierten Röhrchens das Ende des Serumröhrchens in einem stumpfen Winkel berührt, damit ein langsames Herüberfließen möglich ist. Wenn der markierte Punkt erreicht ist, haben wir die gewünschte Serumlänge (-menge) vorgelegt. Jetzt werden die Sedimentblutkörperchen hinzugefügt. Durch das Zentrifugieren des zu untersuchenden Blutes sind Serum und Blutkörperchen scharf voneinander getrennt. An dieser Stelle wird das Serum mittels einer kleinen Pfeile abgetrennt, und ebenso das vorher zugeschmolzene Ende. Während die Blutkörperchen an dem Ende der Serumsäule zugesetzt werden, an dem vorher das Serum vorgelegt worden ist, wird genau beobachtet, daß die Serumsäule genau den zweiten Markierungspunkt erreicht. Werden die Blutkörperchen aus dem untersten Drittel des Zentrifugates zugeführt, wird der zweite Markierungspunkt genau eingehalten.

Wird dagegen vom obersten Drittel Blutkörperchensediment verwendet, überschreiten wir den betreffenden Punkt um etwa 1 mm, da die Dichte des Sedimentes nach oben hin abnimmt.

Das Mischen.

Sind bei allen Kapillaren Blutkörperchen hinzugesetzt, dann wird das Mischen in einer Mischapparatur vorgenommen, und zwar 10 Minuten lang. Die Apparatur besteht aus einem elektrischen Motor, der eine senkrecht stehende Scheibe, auf der die Kapillaren in besonders dafür geeigneten Haltern eingeklemmt werden, 3 Umdrehungen in der Minute machen läßt. Durch diese langsame Umdrehung ist eine gründliche Mischung der Blutkörperchen mit dem Serum durch Hin- und Herfließen der Flüssigkeit von einem Ende zum anderen möglich. Es ist darauf zu achten, daß die Flüssigkeit nicht die Öffnungen der Kapillaren erreicht, um ein Herausfließen zu vermeiden. Während der Mischzeit entstehen Agglutinate.

Das Auswerten.

Nach der Absorption (Mischen) werden die Kapillaren an einem Ende zugeschmolzen, und zwar wird die Öffnung gewählt, von der aus vorher kein Zusatz der Blutkörperchen erfolgte, denn an dieser Stelle befinden sich keine Blutkörperchen, die in dem Kapillarinnern haften geblieben sind. Nachdem die Kapillaren 10 Minuten lang zentrifugiert worden sind und nochmals die Blutkörperchensäule gemessen worden ist, wird die ermittelte Säulenlänge zu der Serumsäulenlänge in Beziehung gebracht und prozentual bestimmt. Nachdem die Röhrchen etikettiert worden sind, wird die Sedimentblutkörperchensäule abgefeilt und zu dem übriggebliebenen Serum etwa 1—1,5 mm Testblutkörperchensediment hinzugefügt. Diese Menge muß möglichst eingehalten werden, da ein Zuviel an Blutkörperchen eine evtl. auftretende geringe Agglutination überdecken würde. Die Röhrchen werden jetzt wiederum 10 Minuten gemischt. Tritt nach dieser Zeit in einer Kapillare eine Agglutination auf, so ist damit bewiesen, daß die Blutkörperchenmenge, die zur Absorption zugesetzt worden war, nicht ausreichte, um alle Agglutinine zu binden. Den Vorgang der Agglutination bezeichnen wir mit positiv oder +. Ist dagegen in einem Röhrchen die Agglutination bei der Auswertung ausgeblieben, so besagt das, daß die hinzugesetzte Blutkörperchenmenge zu groß war oder gerade ausreichte. Das Ausbleiben der Agglutination wird mit negativ oder — bezeichnet. Oft ist man gezwungen, noch einen Zwischenversuch anzusetzen, da die Spanne zwischen Positiv und Negativ zu groß ist und man den eigentlichen Rezeptorstärkenwert näherkommen will. Ob bei der Auswertung in den Kapillarröhrchen Agglutination aufgetreten ist oder nicht, wird auf einer elektrisch beleuchteten Milchglasscheibe makroskopisch überprüft.

Welchen Einfluß die Temperatur auf die Untersuchungen hat, hat sich aus folgendem ergeben: Holz und Schmidt, die in der kalten Jahreszeit bei einer Temperatur von 22° gearbeitet haben, stellten niemals Rezeptorstärken über 25% fest, während wir meistens bei einer Zimmertemperatur von 30—33° die Versuche vornahmen, die dann öfter zu höheren Rezeptorstärken führten.

Auf das Auftreten von Geldrollen bei der Auswertung ist besonders zu achten, weil man sonst fälschlicherweise zu sehr hohen Rezeptorstärkenwerten kommen kann.

Bestimmung der Absorptionsdauer.

Technik der Versuche mit veränderter Absorptionsdauer (Mischzeit).

Nachdem die Rezeptorstärke festgestellt worden ist, soll an Hand von Versuchen die Frage geklärt werden, ob eine Absorptionszeit von 10 Minuten Dauer ausreichend ist, zu kurz ist — wie Pietrusky*) annimmt —, oder ob die Absorption schon in einer kürzeren Zeit abgeschlossen ist. Zu diesem Zweck wird Zeit und Menge des Blutkörperchensedimentes in der Weise variiert, daß einmal mit kleineren Mengen Sedimentes, als zur vorher ermittelten Rezeptorstärke erforderlich ist, länger als 10 Minuten absorbiert wird, und das andere Mal mit einer größeren Blutkörperchensedimentsäule weniger als 10 Minuten absorbiert wird; denn wenn mit der ausreichenden Menge eine kürzere Zeit absorbiert wird, so ergibt sich eine unvollständige Absorption und wenn mit einer ausreichenden Menge länger als 10 Minuten absorbiert wird, so ergibt sich, da das Serum schon ohnehin nach 10 Minuten erschöpft war, daß die Verlängerung der Absorptionszeit überflüssig ist.

Ist die Rezeptorstärke mit 20% festgestellt worden, so werden bei den Versuchen 18% Blutkörperchensediment hinzugesetzt und 10, 20, 30, 40, 50 und 60 Minuten lang absorbiert. Bei 18% Blutkörperchensediment und bei einer Absorptionsdauer von 10 Minuten wurde eine deutliche Agglutination bei der Auswertung beobachtet. Wir nahmen nun an, daß bei einer längeren Absorptionsdauer die Rezeptoren die Agglutinine besser binden, für den Fall, daß die Absorption in 10 Minuten noch nicht abgeschlossen war.

Um gleichzeitig die Frage zu beantworten, ob die Absorption vielleicht schon in einer kürzeren Zeit als 10 Minuten abgeschlossen ist, werden in der nächsten Versuchsreihe 22% Blutkörperchen zugesetzt und 1, 3, 5, 10 Minuten lang absorbiert. Hierbei stellen sich dieselben Ergebnisse ein, wie bei der Absorption mit ausreichender Elutkörperchenmenge, also eine Erschöpfung des Serums in 10 Minuten.

Erläuterung zu den Tabellen.

Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabellen dargestellt. Die erste Spalte bezeichnet die Nummer des Versuches. Die zweite enthält den Namen, die Blutgruppe und die Rezeptorstärke. Die folgende Spalte gibt die Absorptionsdauer von 1, 3,

*) Mündliche Äußerung!

5 ,10, 20, 30, 40, 50 und 60 Minuten an. Das Auftreten von Agglutinaten bei der Auswertung im Anschluß an die Absorption wird mit + bezeichnet, während — bedeutet, daß keine Agglutinate bei der Auswertung beobachtet wurden. ± läßt eine Übergangsstufe vom Positiven zum Negativen hin erkennen.

Jede Querspalte enthält einen Doppelversuch, d. h. eine Versuchsreihe mit erhöhter und eine Versuchsreihe mit erniedrigter Sedimentmenge, als zur vorher festgestellten Rezeptorstärke erforderlich ist.

Vers.-Nr.	Name	Blutgruppe	Rezept. stärke %	Rezept. stärke + od. — 2%	Absorptionsdauer in Minuten 1	3	5	10	20	30	40	50	60
				21,5	+	+	±	—					
1	Mantel	A	19,5	19,5	+	+	±	—					
				17,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
				19,0	+	+	+	—					
2	Piehler	A	17,0	17,0	+	+	+	—					
				15,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
				21,5	+	+	+	—					
3	Thieme	A	19,5	19,5	+	+	+	—					
				17,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
				19,5	+	+	±	—					
4	Schilling	A	17,5	17,5	+	+	±	—					
				15,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
				29,0	+	+	+	—					
5	Nietschmann	A	27,0	27,0	+	+	+	—					
				25,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
				28,0	+	+	±	—					
6	Hornung	A	26,0	26,0	+	+	±	—					
				24,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
				30,0	+	+	±	—					
7	Müller	A	28,0	28,0	+	+	±	—					
				26,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
				22,0	+	+	±	—					
8	Peter	B	20,0	20,0	+	+	±	—					
				18,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			A-Rezept.	20,0	+	+	±	—					
9	Gaudig	AB	18,0	18,0	+	+	±	—					
				16,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			B-Rezept.	26,0	+	+	+	—					
10	Gaudig	AB	24,0	24,0	+	+	+	—					
				22,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
				16,0	+	+	+	—					
11	Eichenauer	A	14,0	14,0	+	+	+	—					
				12,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Vers.-Nr.	Name	Blutgruppe	Rezeptorstärke %	Rezept. stärke + od. — 2%	Absorptionsdauer in Minuten 1	3	5	10	20	30	40	50	60
12	Bergmann	A	14,0	16,0	+	+	+	—					
				14,0	+	+	+	—					
				12,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Noack	A	15,0	17,0	+	+	+	—					
				15,0	+	+	+	—					
				13,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Geißler	A	23,0	25,0	+	+	+	—					
				23,0	+	+	+	—					
				21,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	Gesell	A	28,0	30,0	+	+	+	—					
				28,0	+	+	+	—					
				26,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	Mette	A	17,0	19,0	+	+	—	—					
				17,0	+	+	+	—					
				15,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	Seibel	A	22,0	24,0	+	+	+	—					
				22,0	+	+	+	—					
				20,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Zöge	A	17,0	19,0	+	+	+	—					
				17,0	+	+	+	—					
				15,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Seifert	A	21,0	23,0	+	+	—	—					
				21,0	+	+	+	—					
				19,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	Kramm	A	19,0	21,0	+	+	+	—					
				19,0	+	+	+	—					
				17,0	+	+	+	+	+	+	+		

Beschreibung von Versuch 1.

Bei der Untersuchung des Blutes (Mantel) ergab sich eine Rezeptorstärke von 19,5%. Zu der nun folgenden Versuchsreihe mit erhöhter Rezeptorstärke um 2% werden 4 Kapillaren angesetzt und das erste Röhrchen eine, das zweite Röhrchen 3, das dritte 5 und das letzte 10 Minuten lang absorbiert. Bei der Auswertung erhielten wir nach 1, 3 und 5 Minuten eine Agglutination, bei 5 Minuten in einigen Fällen einen Übergang vom positiven zum negativen Wert. Bei 10 Minuten war niemals eine Agglutination zu erkennen. Nun wird die Versuchsreihe mit einer geringeren Blutkörperchenmenge (17,5%) vorgenommen. Es werden jetzt 9 Kapillaren angesetzt und die erste Kapillare 1, die zweite 3, die dritte 5, die vierte 10, die fünfte 20, die sechste 30, die

siebente 40, die achte 50 und die neunte 60 Minuten absorbiert. In sämtlichen Kapillaren trat eine Agglutination auf. Daraus ergibt sich, daß durch Steigernug der Absorptionsblutkörperchenmenge eine Verkürzung der Absorptionsdauer nicht zu erreichen ist und daß durch eine Verlängerung der Absorptionsdauer eine Herabsetzung der Absorptionsblutkörperchen nicht möglich gemacht werden kann.

Auswertung der Versuche.

Die Tabellen zeigen bei einer Absorptionsdauer von 1, 3, 5, 10 Minuten, daß die Absorption in 1, 3, 5 Minuten noch nicht abgeschlossen ist. Die Sedimentmenge, die in 10 Minuten alle Agglutinine gebunden hatte (ersichtlich an dem Fehlen von Agglutinaten bei der Auswertung), konnte sie in einer kürzeren Zeit nicht restlos erschöpfen und ließ noch etliche Agglutinine im Serum, die später mit den Testblutkörperchen bei der Auswertung Verklumpungen eingingen. 5 Minuten genügen in einzelnen Fällen, um das Serum zu erschöpfen, wie Versuch 16 und Versuch 19 zeigen, während 10 Minuten immer ausreichten. Bei 5 Minuten Absorptionszeit ist öfter ein Übergang (also ein Schwächerwerden der Auswertungsagglutinate) vom Positiven zum Negativen hin zu beobachten.

Bei einer Absorptionsdauer von 1, 3, 5, 10, 20, 30, 40, 50 und 60 Minunten traten unter Verwendung geringerer Blutkörperchenmengen Auswertungsagglutinate auf, die trotz längeren Absorbierens bis zu einer Stunde immer wieder in der gleichen Stärke auftraten. Wenn die Zeit von 10 Minuten zu kurz gewesen wäre, um dem Serum alle Agglutinine zu entziehen, dann müßten sich die Versuche bei längerem Absorbieren ändern und bei der Auswertung eine negative Reaktion zeigen. Bei einem Mehr an Blutkörperchensediment, als zur vorher bestimmten Rezeptorstärke erforderlich ist, ist das Serum nach 10 Minnuten auch erschöpft. Bei dementsprechend weniger Blutkörperchensediment kann niemals eine Erschöpfung erreicht werden, auch wenn man 30, 40, 50, selbst 60 Minuten absorbiert.

Untersuchung über die Titerstärke des Testserums.

Wie oben schon erwähnt, verwenden wir zur Rezeptorbestimmung ein bestimmtes Testserum mit der Titerstärke von 1:64. Als der Spender unseres Testserums für längere Zeit verreiste, mußten wir ein anderes Serum mit gleicher Agglutininstärke suchen. Damit tauchte nun die Frage auf, inwieweit ein

Serum mit einer anderen (niedrigeren oder höheren) Titerstärke die Rezeptorbestimmung beeinflußt. Um das zu erklären, untersuchen wir ein und dasselbe A-Blut auf seine Bindungsstärke mit 1:64, 1:32 und 1:8 Antiserum. Die Titerstärken der B-Seren wurden durch Titrieren auf Objektträger festgestellt.

Erklärung der folgenden Tabellen.

Die Tabellen enthalten die Rezeptorstärken der A-Rezeptoren mit Seren verschiedener Titerstärken. Die erste Spalte gibt die Nummer, die zweite Namen und Blutgruppe an. Die dritte Spalte bringt die Rezeptorstärke mit 1:64 Serum, die vierte die Rezeptorstärke mit 1:32 Serum, und die fünfte enthält die Rezeptorstärke mit 1:8 Serum.

Vers.-Nr.	Name	Blut-gruppe	R.St. mit Ser. 1:64	R.St. mit Ser. 1:32	R.St. mit Ser. 1:8
1	Famio	A	23,0%	17,5%	7,5%
2	Raag	A	23,5%	16,0%	9,0%
3	Lentsch	A	21,0%	16,0%	7,0%
4	Pech	A	24,5%	19,0%	10,5%
5	Schmidt	A	22,5%	17,5%	8,0%
6	Deckert	A	19,0%	12,0%	6,5%
7	Bock	A	32,5%	27,5%	13,5%
8	Brandke	A	19,0%	16,5%	7,0%

Beschreibung des ersten Versuches.

Zuerst wurde bei dem Blut von Famio, der Blutgruppe A angehörend, die Rezeptorstärke mit einem Testserum von 1:64 festgestellt, sie betrug 23%. Zur nächsten Rezeptorbestimmung desselben Blutes wurde ein Testserum mit einer Titerstärke von 1:32 verwendet, und es ergab sich eine Rezeptorstärke von 17,5%, also eine um 5,5% geringere Rezeptorstärke im Vergleich zur ersten. Mit dem 1:8 Serum fiel die Höhe der Rezeptorstärke bis auf 7,5% herab.

Beschreibung des zweiten Versuches.

Der Versuch Raag zeigt wieder eine deutliche Abnahme der Rezeptorstärke bei den drei verschiedenen Testseren mit fallenden Titerstufen. Hier beträgt der Unterschied zwischen 1:64 und 1:32 Serum 7,5%. Die Rezeptorstärke bei einem Testserum von 1:8 ist wiederum sehr niedrig und beträgt 9%.

Auswertung der Tabellen.

Die höchste Rezeptorstärke wurde bei den Versuchen mit dem Testserum der größten Agglutininstärke erhalten. Diese Erscheinung ist nicht merkwürdig, denn ist ein Serum reich an Agglutininen, so werden eben mehr Blutkörperchen agglutiniert, als wenn weniger Agglutinine vorhanden sind. Die Werte mit 1:32 Serum liegen sämtlich unter dem Wert mit 1:64 Serum. Der Unterschied beträgt im Durchschnitt 5—7%. Die Versuche, die mit 1:8 Serum angesetzt worden waren, ergaben sehr niedrige Rezeptorstärken. Da die Agglutinationen bei der Auswertung nach unvollständiger Absorption mit 1:8 Serum sehr schwach waren, ist es nicht ratsam, mit diesem Serum Rezeptorstärken zu bestimmen. Am besten eignet sich das Serum mit einer Titerstärke von 1:64, da der Gegensatz zwischen positivem und negativem Reaktionsausfall bei der Auswertung krasser ist, als wenn man ein Testserum mit einem niedrigeren Titer verwendet.

Brauchbarkeitsdauer des Testserums.

Moskow untersuchte in größeren Abständen das Blut einer Familie, um die Beständigkeit der Agglutinogene während des Lebens nachzuprüfen. Er erhielt jedoch bei den wiederholten Versuchen bei Vater und Sohn andere absolute Werte, aber mit demselben Verhältnis untereinander. Die kleinen Unterschiede in den absoluten Zahlen erklärte sich Moskow mit der Veränderung in der Kraft des Testserums. Wenn sich die Empfindlichkeit der Agglutinogene verändert hätte, so würde sich nicht dasselbe Verhältnis zwischen den Titern der Agglutinogene bei Vater und Kind erhalten haben. Moskows Ergebnisse und auch unsere Untersuchungen, bei denen wir öfter mit altem Testserum Schwierigkeiten hatten, gaben den Anlaß dazu, daß wir unser Testserum vom Tage der Entnahme ab 18 Tage lang auf die Agglutininstärke untersuchten, und zwar so, daß wir das Testserum, das immer im Eisschrank aufbewahrt wurde, jeden Tag auf seine Titerstärke untersuchten. Als Testblutkörperchen benutzten wir das A-Blut eines Klinikangestellten, das wir für jeden Tagesversuch frisch entnahmen, um jede Ungenauigkeit von seiten des Agglutinogens auszuschalten. An den konstanten Testblutkörperchen soll sich nun die Veränderlichkeit des Serums erkennen lassen. Jeder Titerbestimmung des Testserums folgte die Rezeptorstärkenbestimmung der Testblutkörperchen mittels des soeben überprüften Serums zum Vergleich, wie sich eine schwache

Serumveränderung auf die Rezeptorstärke auswirkt. Die Ergebnisse dieser wechselseitigen Bestimmungen sind auf der folgenden Tabelle dargestellt.

Erläuterung der folgenden Tabelle.

Die Tabelle enthält die täglichen Titerbestimmungen des Testserums mit anschließender Rezeptorbestimmung eines bestimmten, jeden Tag frisch entnommenen A-Blutes. Die erste Spalte gibt das Alter des Testserums an, die zweite die Titerstärke des Testserums und die dritte die Rezeptorstärke.

Tage	Titerstärke des Testserums	Rezeptorstärke der Blutgruppe A
0	1:64	22,5%
1	1:64	22,0%
2	1:64	22,5%
3	1:64	22,0%
4	1:64	22,0%
6	1:64	22,0%
7	1:64	22,0%
8	1:64	22,0%
9	1:64	22,5%
10	1:64	22,0%
11	1:64	22,5%
13	1:64	22,5%
14	1:64	22,5%
15	1:64	22,0%
17	1:32	20,0%
18	1:32	19,0%

Auswertung der Tabelle.

Nach den Untersuchungen erhält ein Serum seine Titerstärke, die immer nach 10 Minuten abgelesen wurde, 15 Tage lang aufrecht, um dann in die nächst niedere Titerstufe überzugehen. Die Rezeptorstärke bleibt in den 15 Tagen ziemlich konstant. Kleinere Abweichungen sind durch Witterungsumschläge zu erklären. Am 17. und 18. Tag ergab die Untersuchung des Testserums nur noch eine Titerstärke von 1:32. Das Serum muß also einen Teil des Agglutinins durch das Aufbewahren eingebüßt haben. Die Rezeptorstärke war dementsprechend niedriger.

Zusammenfassung.

I. Das Ausreichen einer Absorptionsdauer von 10 Minuten kann angezweifelt (Pietrusky)*) werden. Wie aber unsere Versuche nun gezeigt haben, hat sich die Absorptionsdauer von 10 Minuten als ausreichend erwiesen.

II. Durch Vergleiche mit Seren von drei verschiedenen Titerstärken, z. B. 1:64, 1:32 und 1:8, kann man das Serum mit einer Titerstärke von 1:64 als das geeignetste für Rezeptorstärkenbestimmungen ansehen.

III. Wie aus den Versuchen hervorgeht, ist ein unverdünntes Testserum, im Kühlschrank aufbewahrt, ungefähr 14 Tage lang zur Rezeptorstärkenbestimmung brauchbar, während es nach dieser Zeit einen Teil seiner Agglutinine einbüßt.

*) Mündliche Äußerung.

Literatur.

Moskow: Deutsche Zeitschrift für gerichtliche Medizin. Bd. 24, 5. Heft, Jhg. 1935.

Ponsold: Das Mengenverhältnis der Absorptionsblutkörperchen zum Serum als Ausdruck der Rezeptorstärke. Dtsch. Ztschr. f. ger. Med. Bd. 30, 1. Heft.

Schmidt: Untersuchung über die Vererbung der Rezeptorstärke an Familien. Diss. Halle a. S. 1938.

Steffan: Handbuch der Blutgruppenkunde. Berlin 1930.

Lebenslauf.

Ich bin am 1. Juni 1914 in Magdeburg als Tochter des Postassistenten, jetzigen Steuerinspektors Robert Stepbach und seiner Ehefrau Luise geb. Rückert geboren. Von Ostern 1921 ab besuchte ich folgende Schulen: Die Grundschule bis Ostern 1924; die Victoriaschule bis Ostern 1926; die Luisenschule (Lyzeum) bis Ostern 1928; die Studienanstalt der Luisenschule bis Ostern 1934. Ostern 1934 erhielt ich das Reifezeugnis. Im Frühjahr 1935 studierte ich das 1. Zahnmedizinische Semester in Freiburg i. Br. die folgenden in Halle. In den Sommerferien 1935 genügte ich der Arbeitsdienstpflicht in Dorfchemnitz (Sachsen). Im Anschluß an das 8. Semester (WS 38/39) legte ich am 21. Juni 1939 das Zahnmedizinische Staatsexamen ab.

Am Schluß dieser Arbeit ist es mir ein Bedürfnis, Herrn Dozent Dr. Ponsold für die Stellung des Themas und für seine freundlichen Ratschläge meinen ergebensten Dank abzustatten.

Druck: Carl Nieft, Spezialwerkstätten für wissenschaftliche Arbeiten, Bleicherode am Harz